

発表番号 5 (0302)

## 高吸水性ゲルによるタンパク質溶液の脱塩・濃縮プロセスの開発

助成研究者:入谷 英司(名古屋大学大学院工学研究科)

共同研究者:向井 康人(名古屋大学大学院工学研究科)

片桐 誠之(名古屋大学大学院工学研究科)

タンパク質溶液の濃縮は、食品、医薬品工業やバイオインダストリー等の分野で極めて重要である。タンパク質溶液には、その分離精製プロセスの過程で、種々の塩が含まれることが多く、タンパク質の濃縮と同時に脱塩が必要となる場合が多いが、単一の手法で実行することは極めて困難であり、効率的な分離手法の開発が切望されている。一方、高吸水性ゲルは通常のゲルに比べ水をより多量に吸収し、自重の数百倍もの水を保持し得る。溶液中でゲルが膨潤すると溶液がゲル内部に移動するが、溶質の大きさがゲルの高分子網目のサイズより大きければゲルの表面で阻止され、分離膜と同様のふるい機能により溶液の濃縮が可能となる。本研究では、この高吸水性ゲルのふるい効果をタンパク質溶液の脱塩・濃縮操作に応用した。すなわち、塩を含むタンパク質溶液に高吸水性ゲルを添加すると、ゲルは塩溶液のみを吸収しつつ膨潤し、高分子であるタンパク質はゲル表面の網目で排除され濃縮される。さらに、濃縮液から膨潤ゲルを取り除いて純水で希釈し、再びゲルを添加するという操作を繰り返すことにより、脱塩も進行する。本研究では、高吸水性ゲル粒子によるタンパク質溶液の脱塩・濃縮操作を多段で行い、ゲル粒子の吸液特性に及ぼす塩濃度やゲル添加量の影響を定量的に検討し、脱塩・濃縮のための効果的な操作指針を提案する。

実験試料には、高吸水性ゲル(ポリアクリル酸塩架橋体)粒子とモデルタンパク質として牛血清アルブミン(BSA)、塩として KCl を使用した。種々の濃度の塩溶液に対するゲル粒子の吸液率を測定し、塩濃度が小さいほどゲルの膨潤度が大きくなることを明らかにするとともに、任意の塩濃度におけるゲル添加率と吸液量との関係を定量的に記述できる実験式を求めた。この実験式により単段操作だけでなく、多段操作を行った場合の各段における脱塩・濃縮特性を精度良く推定することができた。二段操作では、まずゲルの膨潤により BSA を濃縮させた後、超純水を加えて KCl 及び BSA 濃度を低下させ、さらにゲルを添加して脱塩と BSA の濃縮を行った。これと対照して、はじめに二段操作で加える量と同じ量の超純水を加えて KCl 及び BSA 濃度を低下させ、次いで二段操作で使用するゲルの総量を一度に加えるという前希釈単段操作を行い、両操作の結果を比較した。KCl の脱塩、BSA の濃縮のいずれも、二段操作の方が優れていた。さらに三段操作を行うことにより、KCl は濃度比 0.15 まで希釈でき、BSA は最大で 5.1 倍まで濃縮できることを確認した。

以上のように、高吸水性ゲル粒子を利用した塩を含むタンパク質溶液の脱塩・濃縮法を提案し、多段操作を行うことにより効率的な脱塩と濃縮の両者が可能となることを示した。



2

助成番号 0302

## 高吸水性ゲルによるタンパク質溶液の脱塩・濃縮プロセスの開発

助成研究者：入谷 英司 (名古屋大学大学院工学研究科)

共同研究者：向井 康人 (名古屋大学大学院工学研究科)

片桐 誠之 (名古屋大学大学院工学研究科)

## 1. 研究目的

タンパク質溶液の濃縮は、食品、医薬品工業やバイオインダストリー等の広範な分野において極めて重要である。タンパク質溶液には、その分離精製プロセスの過程で、種々の塩が含まれることが多く、タンパク質の濃縮と同時に脱塩が必要となる場合が多いが、単一の手法で実行することは極めて困難であり、効率的な分離手法の開発が切望されている。

一方、高分子ゲルが有する架橋構造と膨潤性による吸液機能を利用すると、溶液やスラリーの濃縮が可能となることが知られており、これまで多くの報告がなされてきた<sup>1~4)</sup>。ゲルの膨潤過程では、ゲルと分離対象のバルク溶液との間に発生する浸透圧差を推進力として、溶液がゲル内部に移動するが、溶質の大きさがゲルの高分子網目のサイズより大きければ溶質のみがゲルの表面で阻止され、分離膜と同様のふるい機能により溶液の濃縮が可能となる。ゲルを利用した分離操作は、蒸発法のように熱を用いることがなく、また膜分離法のようにポンプを使用することもなく、これらの分離法と比較して非常に穏和な条件下で操作を行うことができるため、特にタンパク質のような変性しやすい高分子溶液の分離・濃縮に適している。

最近では、通常のゲルに比べ水をより多量に吸収し、自重の数百倍もの水を保持し得る、いわゆる高吸水性ゲルが開発され、衛生用品や土壌保水剤など多方面の用途に用いられている。高吸水性ゲルは、一般に高分子電解質ゲルを緩く架橋した構造をもち、たとえば代表的なポリアクリル酸塩架橋体の高吸水性ゲルでは、これを水中に添加するとアクリル酸塩部のイオンが解離して、分子網目に固定されたカルボキシル基同士の反発作用によりゲルは膨潤し、高分子内への吸水が行われる。分離操作への利用も有望であり、タンパク質溶液<sup>5)</sup>やアルコール水溶液<sup>6)</sup>の効率的な濃縮が可能なが明らかにされている。

本研究では、この高吸水性ゲルのふるい効果をタンパク質溶液の脱塩・濃縮操作に応用する。すなわち、塩を含むタンパク質溶液に高吸水性ゲルを添加すると、ゲルは塩溶液のみを吸収しつつ膨潤し、高分子であるタンパク質はゲル表面の網目で排除され濃縮される。さらに、濃縮液から膨潤ゲルを取り除いて純水で希釈し、再びゲルを添加するという操作を繰り返すことにより、脱塩も進行する。本研究では、高吸水性ゲル粒子によるタンパク質溶液の脱塩・濃縮操作を多段で行い、ゲル粒子の吸液特性に及ぼす塩濃度やゲル添加量

の影響を定量的に検討し、得られた知見に基づき、脱塩・濃縮のための効果的な操作指針を提案する。

## 2. 研究方法

使用した高吸水性ゲルは球形粒子のポリアクリル酸塩架橋体(三菱化学(株)製、アクアパールA2及びA3)であり、負電荷をもつ。このゲル粒子を振動ふるい器によって分級し、拡大投影器で粒度分布を測定した。実験には主に収縮時の面積平均径が189 $\mu\text{m}$ のゲル粒子を使用した。モデルタンパク質試料には、分子量MW=67,000、等電点pI 4.9の牛血清アルブミン(BSA)(片山化学工業(株)製、Fraction V)を用い、KCl(和光純薬(株)製、MW=74.55)溶液中に溶解させた。なお、純水には水道水をMilli-RO 60逆浸透純水装置とそれに引き続きMilli-Q SP UF超純水装置(いずれもミリポア(株)製)に通して得た超純水を用いた。

Figure 1には、一例として二段のゲル添加による脱塩・濃縮操作の概略を示した。まず、BSAを初期塩濃度 $c_0$ のKCl溶液に溶解させ、BSAの初期質量分率 $s_{b0}$ が $5 \times 10^{-4}$ の試料溶液を調製した。なお、試料液のpH調整は行わなかったが、このときの溶液のpHを測定したところ約5.5であり、BSAは負の実効電荷をもつ。また、脱塩・濃縮操作によるpH変化はほとんどなかった。300mlビーカーにこの試料溶液を100g入れた後、ジャーテスタにより80rpmで撹拌しつつ、所定量のゲル粒子を添加した。時間の経過とともにゲルはKCl溶液のみを吸収して膨潤するため、バルク溶液中のBSAが次第に濃縮される。撹拌は、ゲルを試料溶液中に均一に分散させることのほか、膨潤過程でゲル表面に形成されると予想される排除タンパク質分子の堆積層の成長を阻止するという効果もある<sup>5)</sup>。したがって、この撹拌は限外濾過において膜面上への濾過ケーキ層の形成を阻止するためによく行われるいわゆるクロスフロー操作と同様の効果が期待できる<sup>7)</sup>。膨潤平衡に充分達した30min後に、42メッシュで直径5cmの小型の円筒状ふるいを用いてバルク溶液から膨潤ゲル粒子を分離した。ふるいを通じた濃縮液はセルロースアセテート製で公称孔径0.45 $\mu\text{m}$ のシリンジフィルター(アドバンテック東洋(株)製)で濾過し、BSA濃度は280nmでの吸光度の測定から、またKCl濃度は電気伝導度の測定から求めた。また、膨潤ゲルの質量を測定し、収縮時のゲルの質量との差からゲルの吸液質量を求めた。二段操作では、さらに、このBSA濃縮液をその全量が初期試料原液量に等しい100gになるように超純水で希釈し、再びゲル粒子を所定量添加し、同様の操作を行い、BSA及びKClの濃度と膨潤ゲルの吸液量を測定した。なお、各操作で添加されたゲルの最大添加量は、一段操作では7.6g、二段操作の二段目では6g、三段操作の三段目では3.5gである。

吸光度は本実験の濃度範囲では溶液に含まれるKClの影響を受けないことを確かめている。また、電気伝導度については、本実験の濃度範囲では溶液に含まれるBSAの影響を受けないが、ゲルの添加により未架橋の高分子電解質やイオンがバルク溶液中にわ

ずかに流出するため、これらが電気伝導度に及ぼす影響を補正してKCl濃度を求めた。

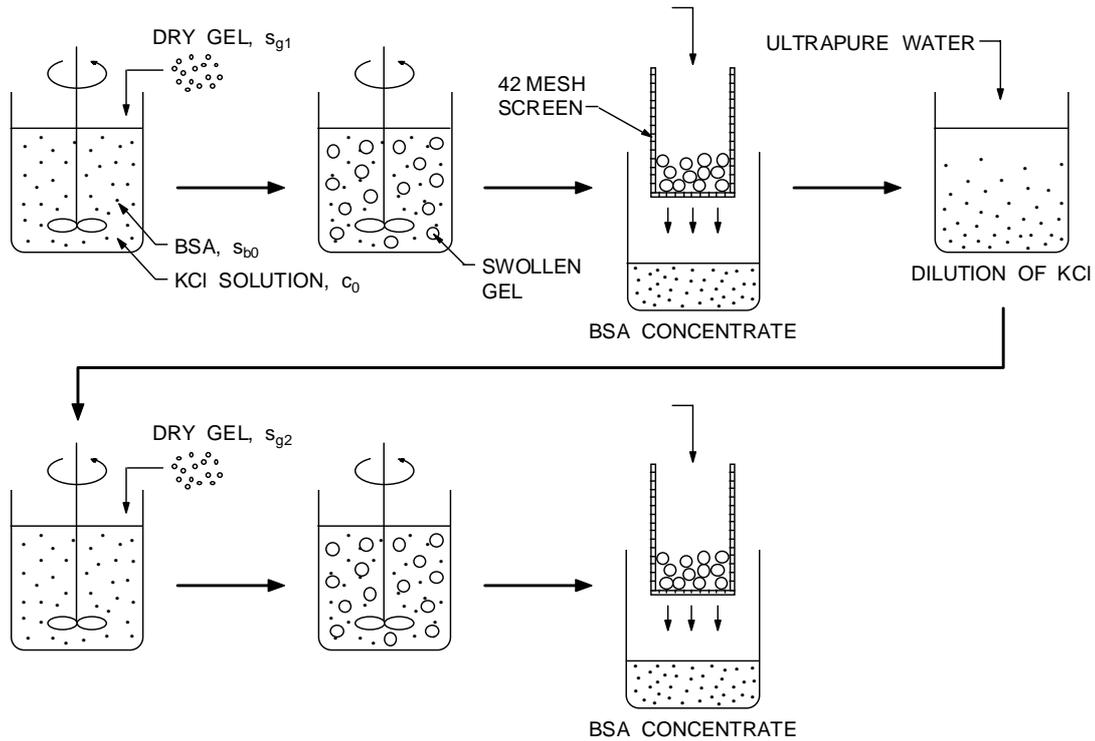


Fig. 1 Schematic diagram of desalination and concentration process in two-stage operation

### 3. 研究結果および考察

#### 3.1 ゲル粒子の吸液膨潤特性

拡大投影器を用いて測定したゲル粒子1個の直径  $d_p$  (乾燥時は  $327\mu\text{m}$ ) の経時変化を Fig. 2 にプロットした。純水、KCl濃度  $c_0$  が  $0.1$  及び  $0.5\text{mol/l}$  の塩溶液のそれぞれについて、ゲルの膨潤特性を比較すると、塩の存在により膨潤が著しく抑制され、その傾向は塩濃度が大きいほどより顕著となることがわかる。球状ゲルの膨潤過程は、田中ら<sup>8)</sup>によってよく検討されており、膨潤によるゲル半径の経時変化は、次式で表されることが知られている。

$$\frac{\Delta a(\theta)}{\Delta a_0} (\equiv M) = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} n^{-2} \exp\left(-\frac{n^2\theta}{\theta_s}\right) \quad (1)$$

ここに、 $\Delta a(\theta)$  は時間  $\theta$  から膨潤平衡時までのゲル粒子の半径の増加量、 $\Delta a_0$  は膨潤の全過程におけるゲル粒子の半径の増加量、 $\theta_s$  は次式で定義できる膨潤時間係数である。

$$\theta_s = a^2 / D \quad (2)$$

ここに、 $a$  は平衡時における膨潤ゲルの半径、 $D$  はゲルの拡散係数であり、高分子網目と溶媒の摩擦粘性係数に対する網目の弾性率の比として定義される。Eq. (2) によれば、小さなゲルほど速く膨潤することとなり、それが濃縮操作に要する時間の短縮に繋がること

わかる。

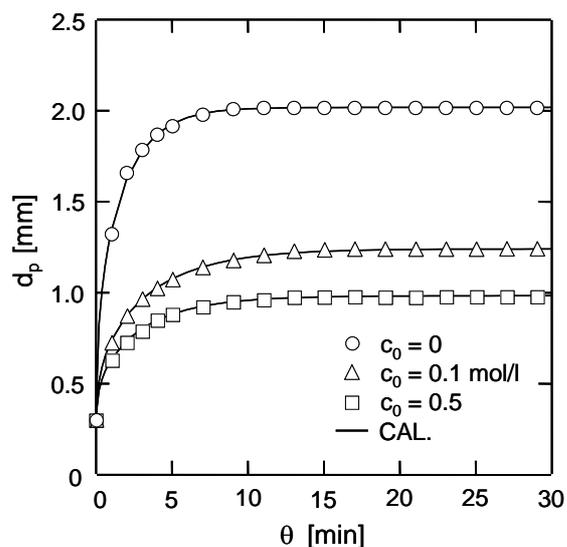


Fig. 2 Variation over time of diameter of gel particle during swelling process

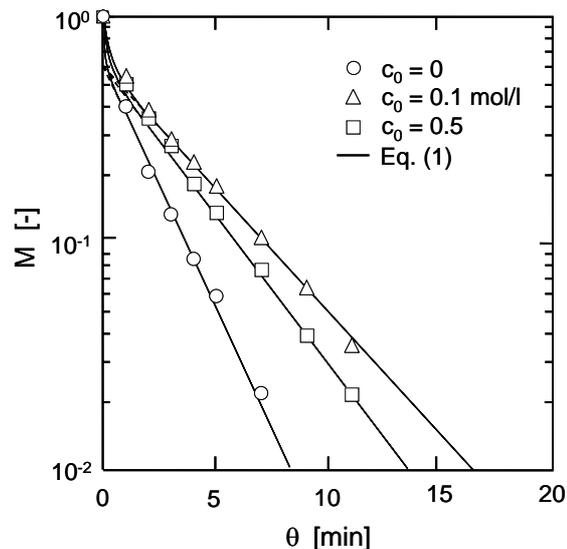


Fig. 3 Plot based upon Eq. (1)

Figure 2 に示したゲル粒子の直径の経時変化のデータに基づき、 $M$ として表した Eq. (1) の左辺と膨潤時間  $\theta$  との片対数プロットを Fig. 3 に示した。図中の実線は、Eq. (1) でフィッティングさせた計算値である。この計算値は、 $\theta/\theta_s > 0.25$  の場合には片対数紙上で直線関係を示し、図の破線のように次式で近似できる。

$$M = \frac{6}{\pi^2} \exp\left(-\frac{\theta}{\theta_s}\right) \quad (3)$$

ここに示したゲルの膨潤モデルは、ゲルの半径の変化が2倍を越えないような場合に適用できると言われていたが<sup>8)</sup>、Eqs. (1)、(3)のいずれも、極めて大きな膨潤度をもつ高吸水性ゲル粒子の膨潤過程を精度良く記述できることが明らかとなった。図中の破線の直線勾配から Eq. (3) に基づき  $\theta_s$  を決定できるので、このようにして求めた  $\theta_s$  の値を用いて、Eq. (1) の関係式からゲル粒子の膨潤度の経時変化を計算した結果を、Fig. 2 に実線として示した。計算値は実測値と良好な一致を示した。

種々の初期塩濃度  $c_0$  の KCl 溶液に対するゲル粒子の吸液率を Fig. 4 に示した。溶液の質量に対する実測したゲルの吸液質量の比として表したゲルの吸液率  $R_w$  を、試料液に対するゲル添加量の質量分率として表したゲル添加率  $s_g$  に対してプロットした。塩濃度が小さいほどゲルの膨潤度は大きく、わずかなゲルの添加により、十分な吸液が行われる。これは、Fig. 2 で示したように塩濃度が大きくなると、ゲル外部溶液のイオン強度が増加し、イオン性ゲルの浸透圧が小さくなり、膨潤が抑制されるためである。ゲル添加率が小さな範囲では  $R_w$  と  $s_g$  はほぼ直線関係を示し、ゲルの吸液率はその添加量に比例して増加する。

しかし、 $R_w=0.5$ 付近からプロットは直線関係から次第に離れ始め、徐々にゲルの吸液能

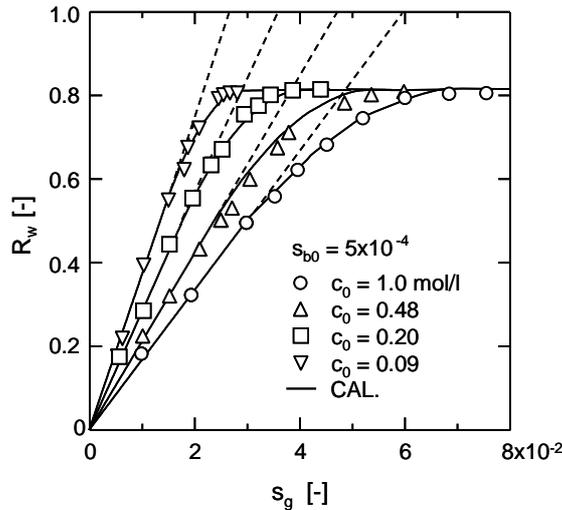


Fig. 4 Relation between mass ratio of solution absorbed by gel to original solution and mass ratio of dry gel to original solution

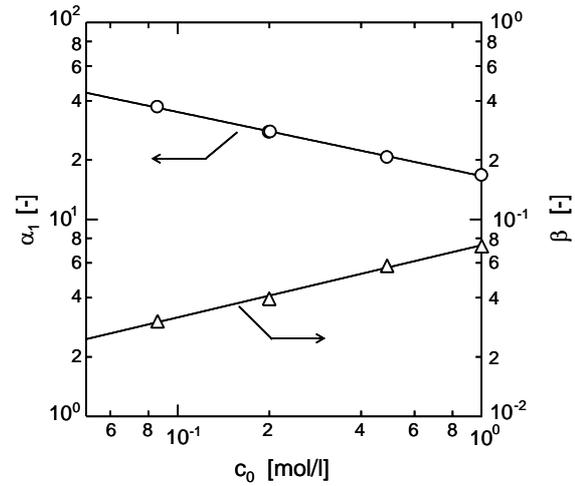


Fig. 5 Effect of KCl concentration on  $\alpha_1$  and  $\beta$  in Eq. (4)

は低下し始め、 $R_w=0.82$ 程度で吸液限界に達しており、さらにゲルを添加しても吸液量は増加しない。これは、試料溶液量あたりのゲル添加量が過剰になると、ビーカー内でゲル粒子同士が密着しあい、互いの吸液能を阻害するためであり、ゲル粒子の膨潤が抑制され粒子間隙に存在する溶液を吸液できないことが観察された。なお、図の結果は試料溶液が100gの場合であるが、試料溶液量に対する添加ゲル粒子量が同一であるならば、ゲル粒子の吸液率は試料溶液量の大小には依存しないことを、実験により確かめている。図の結果から、吸液率  $R_w$  とゲル添加率  $s_g$  との関係は次の実験式で近似できる。

$$\left. \begin{aligned} R_w &= \alpha_1(c_0) s_g && ; R_w \leq 0.5 \\ R_w &= \alpha_2(c_0) \{s_g - \beta(c_0)\}^2 + \gamma && ; 0.5 \leq R_w < \gamma \\ R_w &= \gamma && ; s_g \geq \beta(c_0) \end{aligned} \right\} \quad (4)$$

式中の  $\alpha_1$  及び  $\beta$  と塩濃度  $c_0$  との両対数プロットを Fig. 5 に示した。いずれもほぼ直線関係を示すことから、 $\alpha_1$ 、 $\beta$  はそれぞれ  $c_0$  のべき乗式で表すことができる。また、 $\gamma$  は Fig. 4 の結果から塩濃度  $c_0$  によらず 0.82 となり、その結果  $\alpha_2$  は  $\alpha_1$  と  $\beta$  の関数として表される。したがって、 $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$  及び  $\beta$  はそれぞれ次式で表される。

$$\alpha_1 = 16.5 c_0^{-0.326} \quad (5)$$

$$\alpha_2 = -(0.884 \alpha_1^{-1} - 1.77 \beta)^{-2} = -(0.0536 c_0^{0.326} - 0.13 c_0^{0.367})^{-2} \quad (6)$$

$$\beta = 0.0733 c_0^{0.367} \quad (7)$$

したがって、Eqs. (4) ~ (7) により任意の塩濃度におけるゲル添加率と吸液量との関係が定量的に記述でき、脱塩・濃縮特性の推算が可能となる。

### 3.2 タンパク質溶液の脱塩・濃縮特性

Figure 6には、単段のゲル添加操作において、試料原液のBSA濃度 $s_{b0}$ 及びKCl濃度 $c_0$ に対するゲル膨潤後の各濃度 $s_b$ 、 $c$ の比 $r_{BSA}$ 、 $r_{KCl}$ を、ゲル添加率 $s_{g1}$ に対してプロットした。BSAの濃縮率 $r_{BSA}$ については、ゲル粒子がKCl溶液のみを吸収すると仮定して、その吸液量から算出した値と、バルク溶液の吸光度の測定から得られた値の両者がプロットされている。両者は、ほぼ一致することから、BSA分子はゲル内へは侵入せず、効率的に濃縮されていることがわかる。ゲル内へBSAが取り込まれない原因として、ゲルの高分子網目のふるい機能の他、負電荷をもつBSAとゲルの静電的反発作用の関与も考えられる。ゲル添加率の増加とともにBSAの濃縮率 $r_{BSA}$ は増大し、その増加傾向はゲル添加率が増加するに伴い次第に著しくなったが、 $s_{g1}=0.06$ 以降を境目として緩やかになった。一方、KClは水とともにゲル粒子内に取り込まれるため、バルク溶液のKCl濃度はほとんど変化しない。図中の実線は、Eqs. (4)~(7)により計算した結果であり、BSA及びKClの実測値とおおむね一致した。なお破線は、ゲル吸液率 $R_w$ がゲルの高添加率領域においても添加率 $s_g$ に比例して増加すると仮定し、次式を用いて計算した結果である。

$$R_w = \alpha_1(c_0)s_g \quad (8)$$

二段操作の結果を、 $r_{BSA}$ 、 $r_{KCl}$  対 二段目のゲル添加率 $s_{g2}$ としてFig. 7にプロットした。二段操作では、試料原液100g中に $s_{g1}=0.04$ の割合でゲルを添加した一段操作で得られたBSA濃縮液に、超純水を加えて試料原液に等しい100gに希釈した後に、さらにゲルを添加した。後段操作に入る直前に行われる希釈操作では、ゲルが吸収した分の溶液量に等しい量だけの超純水を加えるという方法で以後すべて行い、どの程度の希釈が最適かという点に関しては、本研究では触れないこととした。BSAは最大で5.1倍まで濃縮されるとと

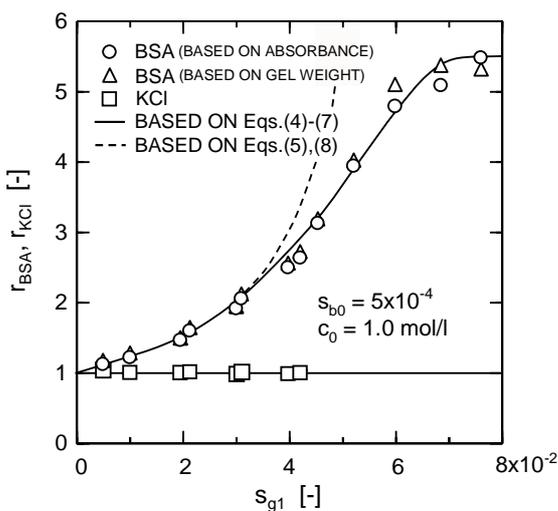


Fig. 6 Relation between concentration ratio and mass ratio of dry gel to original solution in single-stage operation

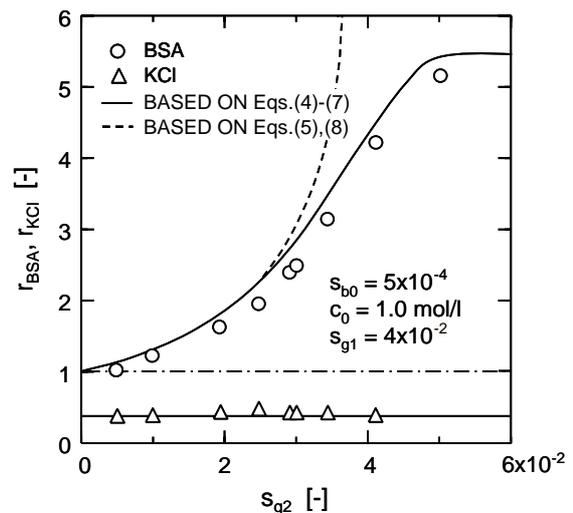


Fig. 7 Relation between concentration ratio and mass ratio of dry gel to original solution in two-stage operation

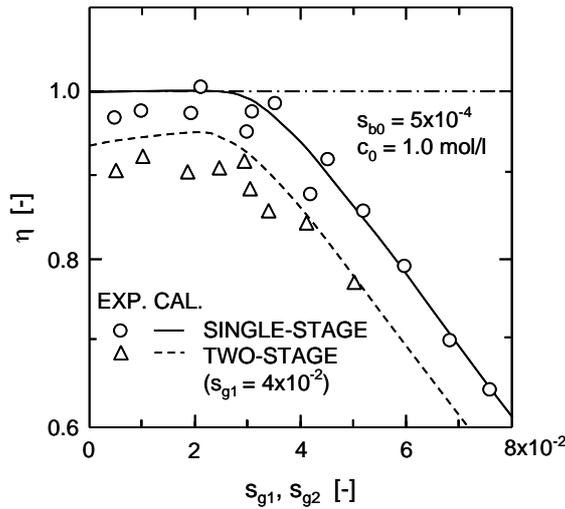


Fig. 8 Comparison between swelling efficiency in single-stage operation and that in two-stage operation

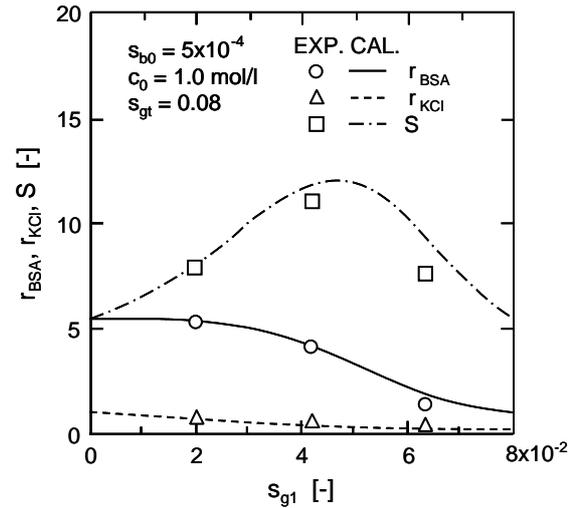


Fig. 9 Separation coefficient and concentration ratio of BSA and KCl at  $s_{gt}=0.08$  in two-stage operation

もに、KClは濃度比0.4まで希釈され、二段操作により脱塩・濃縮が可能であることがわかる。また実線および破線は、それぞれEqs. (4)~(7)及びEqs. (5)、(8)に基づく計算値であり、実測値は実線の計算値とおおむね一致した。

Figures 6、7の各プロットについて、ゲルの吸液効率 $\eta$ をそれぞれの最終段でのゲル添加率 $s_{g1}$ 、 $s_{g2}$ に対してFig. 8にプロットした。ここに、ゲルの吸液効率 $\eta$ は操作全体でゲル粒子が実際に吸収した液の総量と、ゲルの膨潤が阻害されない場合の理想的な総吸液量との比として表した。いずれの操作においても、ゲル添加率が増加しても、はじめ $\eta$ はほぼ一定であるが、ある添加率を超えると次第に減少する傾向を示した。実線および破線は、ゲル粒子の吸液量の推算に基づく $\eta$ の計算値であり、実測値の挙動とおおむね一致した。

次に、二段操作において、ゲルの総添加率を与えた場合に、各段における最適添加率について考察する。Figure 9には、ゲルの総添加率 $s_{gt}(=s_{g1}+s_{g2})$ を0.08に設定した場合の二段操作終了後の $r_{BSA}$ 、 $r_{KCl}$ と、これらの値から次式で算出した分離係数 $S$ を、一段目のゲル添加率 $s_{g1}$ に対して示した。

$$S = \frac{r_{BSA}}{r_{KCl}} = \frac{s_b/s_{b0}}{c/c_0} \tag{9}$$

図中の $s_{g1}=0$ 及び0.08の場合は、それぞれ二段操作における極限の操作を示し、 $s_{g1}=0$ は、100gの原液中にゲルを一度に8g添加する場合で、事実上、単段操作に相当し、その後に濃縮液を希釈しないため、 $r_{BSA}$ は最も大きくなるが、 $r_{KCl}$ は1.0となり、BSA溶液は濃縮されるが、脱塩されない。一方、 $s_{g1}=0.08$ は、100gの原液中に一度に8gのゲルを添加する点では、 $s_{g1}=0$ の場合と同じであるが、その後に濃縮液を全体量が100gとなるように希釈するため、 $r_{BSA}$ は1.0となるが、 $r_{KCl}$ は減少し、BSA溶液は濃縮されないが脱塩される。

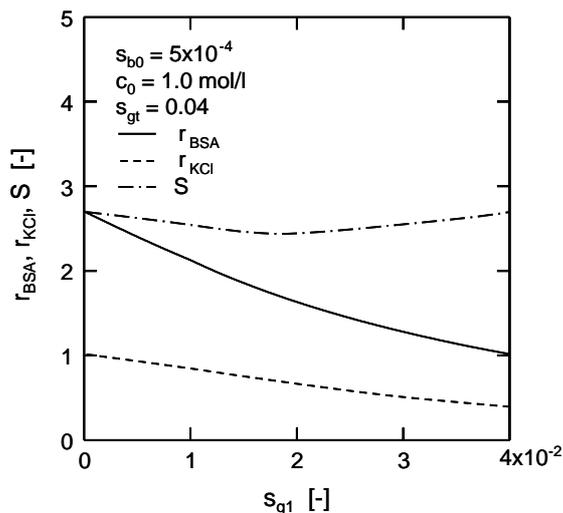


Fig. 10 Separation coefficient and concentration ratio of BSA and KCl at  $s_{gt}=0.04$  in two-stage operation

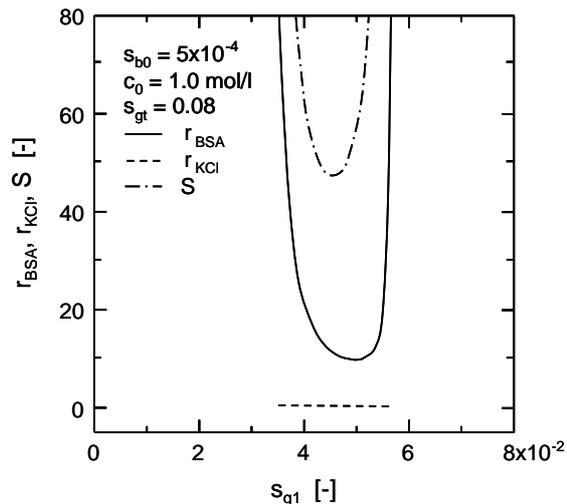


Fig. 11 Separation coefficient and concentration ratio of BSA and KCl in two-stage operation on assumption that mass ratio of solution absorbed by gel to original solution is directly proportional to mass ratio of dry gel to original solution

$s_{g1}=0.045$ 程度で分離係数 $S$ は極大値を示すことが計算値から明らかであり、二段操作における各段での最適添加量の存在が示唆される。また実測値は、計算値とおおむね一致した。

一方、Fig. 10に示したように、ゲルの総添加率 $s_{gt}$ が0.04の場合には、分離係数 $S$ は極小値をもつ曲線となった。このように、ゲルの総添加量が比較的小さい範囲では吸液効率 $\eta$ がほぼ1となり、ゲルの膨潤が抑制されないため、二段階に分けてゲルを添加するより一度に添加する方が分離係数は大きくなる。これに対してゲルの総添加量が大きくなると、ゲルの吸液効率が低下するため、Fig. 9から明らかなように、多段操作を行い、使用するゲルを分配した方が高い分離係数が得られる。

Figure 9に示したゲルの総添加率 $s_{gt}$ が0.08の場合においても、ゲル添加率によらず、ゲルによる吸液率 $R_w$ がゲル添加率に比例して増加し、ついにはすべての溶液を吸収してしまうと仮定し、Eqs. (5)、(8)に基づいて計算した分離係数 $S$ と濃度比 $r_{BSA}$ 、 $r_{KCl}$ をFig. 11に示した。分離係数 $S$ は極小値をもつ曲線となり、Fig. 9の結果とは大きく異なる挙動を示した。この場合には、各段ですべての溶液を吸収してしまう量のゲルを添加すると、分離係数は無限大となる。したがって、ゲルの添加量を増加させてもその吸液効率が低下しないと仮定すれば、分離係数の観点からは、一度にできるだけ多くのゲルを添加するのが有利となる。

二段操作では、まずゲルの膨潤によりBSAを濃縮させた後、超純水を加えてKCl及びBSA濃度を低下させ、さらにゲルを添加してBSAの濃縮を行っている。これと対照して、

はじめ二段操作で加える量と同じ量の超純水を加えてKCl及びBSA濃度を低下させ、次いで二段操作で使用するゲルの総量を一度に加えるという前希釈単段操作も考えられる。二段操作では、一段目に加えるゲルの添加率 $s_{g1}$ の値により、ゲルの吸液量が異なる。したがって、前希釈単段操作における分離係数、濃度比に影響を及ぼす希釈に使用する超純水量は、比較する二段操作の一段目のゲル添加率 $s_{g1}$ の値に応じて異なることになる。Figure 12には、ゲルの総添加率が0.08の場合について、この前希釈単段操作の分離係数 $S$ と濃度比 $r_{BSA}$ 、 $r_{KCl}$ を、比較する二段操作における一段目のゲル添加率 $s_{g1}$ に対してプロットした。Figures 9、12の比較から、分離係数、BSAの濃縮、KClの脱塩のいずれも、二段操作の方が優れていることがわかる。

Figure 13には、三段操作の結果をBSAとKClのそれぞれの最終濃度比 $r_{BSA}$ 、 $r_{KCl}$ 対三段目のゲル添加率 $s_{g3}$ としてプロットした。試料原液100g中に $s_{g1}=0.04$ の添加率でゲルを加えた一段目の操作で得られたBSA濃縮液を超純水で100gに希釈し、次いで $s_{g2}=0.03$ の添加率でゲルを加えて二段目の操作を行った。さらに、得られたBSA濃縮液を再度100gに希釈し、ゲルを添加して三段目の濃縮操作を完了した。BSAは最大で5.1倍まで濃縮され、一方KClは濃度比0.15まで希釈され、ゲル利用型の多段脱塩・濃縮法が有効なことが確認された。図中の実線および破線は、それぞれEqs. (4)~(7)及びEqs. (5)、(8)に基づく計算値であり、実測値は実線の計算値と大略一致した。ただし、二段目、三段目の操作では、前段で濃縮されたBSAをゲルから分離する過程で若干のロスがあり、このためBSA濃縮率の実測値は計算値に比べやや小さくなる傾向を示した。なお、本研究では使用したゲルは再利用しなかったが、ゲル粒子に含まれる塩は透析操作により除去でき、塩を除去した膨潤ゲルは機械的圧縮、または乾燥操作により収縮し、再利用が可能となると考えられる。

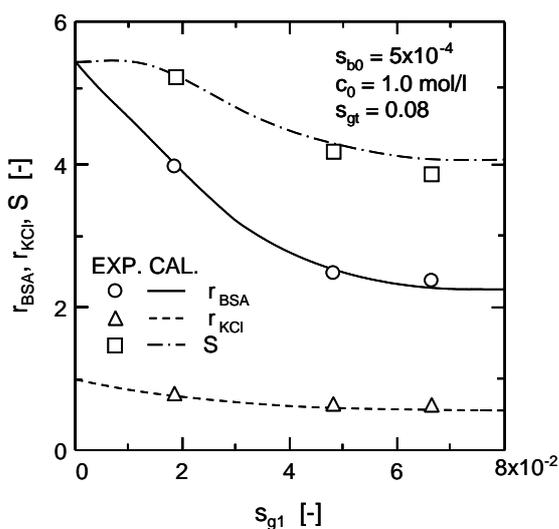


Fig. 12 Separation coefficient and concentration ratio of BSA and KCl in initially diluted single-stage operation

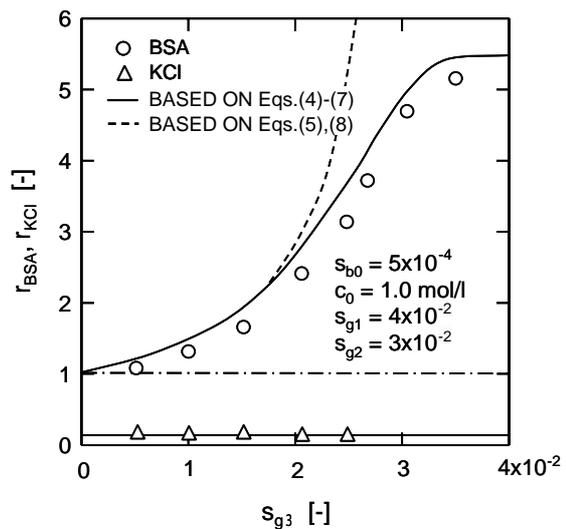


Fig. 13 Relation between concentration ratio and mass ratio of dry gel to original solution in three-stage operation

#### 4. 結論

高吸水性ゲル粒子を利用した塩を含むタンパク質溶液の脱塩・濃縮法を提案し、多段操作を行うことにより効率的な脱塩と濃縮の両者が可能となることを示した。また、ゲルの吸液特性に及ぼす塩濃度やゲル添加量の影響を定量化することにより、各段ごとの脱塩・濃縮特性を精度良く推定できることを示し、単段操作に比べて多段操作がより効果的であることを計算結果と実験結果の両者から明らかにした。

#### 5. 今後の方針

今後、多段操作における各段での希釈率の最適化や使用したゲルの再生方法等についても検討を行い、本研究で提案したタンパク質溶液の脱塩・濃縮プロセスの工業的実用化に向けて、より効率的なプロセスの確立を図る。

#### 6. 文献

- 1) Flodin, P., B. Gelotte and J. Porath: "A Method for Concentrating Solutes of High Molecular Weight", *Nature*, **188**, 493-494 (1960)
- 2) Cussler, E. L., M. R. Stokar and J. E. Varberg: "Gels as Size Selective Extraction Solvents", *AIChE J.*, **30**, 578-582 (1984)
- 3) Huang, X., H. Unno, T. Akehata and O. Hirasu: "Application of Temperature-Sensitive Water-Absorbing Hydrogel (Polyvinylmethylether Gel) to Dewatering of Sludges", *Kagaku Kogaku Ronbunshu*, **13**, 518-521 (1987)
- 4) Park, C. H. and I. Orozco-Avila: "Concentration Cellulase Using a Temperature-Sensitive Hydrogel: Effect of Gel Particle Size and Geometry", *Biotechnol. Prog.*, **9**, 640-646 (1993)
- 5) Iritani, E., M. Iwata and T. Murase: "Concentration of Proteinaceous Solutions with Superabsorbent Hydrogels", *Sep. Sci. Technol.*, **28**, 1819-1836 (1993)
- 6) Ito, A. and M. Fujii: "Enriching of Alcohol-Water Solution Using Absorption and Desorption Property of Polyelectrolyte Hydrogel", *Sekiyu Gakkaishi*, **29**, 43-46 (1986)
- 7) Iritani, E., T. Hayashi and T. Murase: "Analysis of Filtration Mechanism of Crossflow Upward and Downward Ultrafiltration", *J. Chem. Eng. Japan*, **24**, 39-44 (1991)
- 8) Tanaka, T. and D. J. Fillmore: "Kinetics of Swelling of Gels", *J. Chem. Phys.*, **70**, 1214-1218 (1979)

## Development of Desalination and Concentration Process of Protein Solutions with Superabsorbent Hydrogels

Eiji Iritani, Yasuhito Mukai and Nobuyuki Katagiri

Department of Applied Chemistry, Chemical Engineering and Biotechnology,  
Nagoya University

### Summary

It is generally recognized that separation processes of proteinaceous solutions play a vital role in the fields of biotechnology, biomedicine, and food processing. In this separation process, there is a real need for simultaneous operation of concentration and desalination of protein solutions. Traditionally, a wide variety of separation techniques are used for concentrating the dilute protein solutions. One promising technique involves the use of superabsorbent hydrogels. In the technique, dry gel particles are added to a dilute aqueous solution containing protein molecules. This method does not require any special device, and it is especially effective for the concentration of labile solutes such as proteins because it is a mild operation.

We quantitatively investigated a process for desalinating and concentrating bovine serum albumin (BSA) in potassium chloride solution by multi-stage operation with superabsorbent-crosslinked hydrogels. The process employs swelling of gel particles by the absorption of water and salt with exclusion of protein molecules. In the two-stage operation, the concentrated solution was diluted with water, and then other gels were added to the diluted solution in order to further concentrate the protein. As a result, the solution was effectively desalinated and concentrated with the superabsorbent hydrogels. Moreover, when the three-stage operation was executed, the dilution ratio of potassium chloride and the concentration ratio of BSA became 0.15 and 5.1 times, respectively. It was also shown that the characteristics of desalination and concentration of a protein solution by multi-stage operations are well expressed by the swelling behavior of superabsorbent hydrogels for a variety of salt concentrations.

In conclusion, it is clarified that effective desalination and concentration of protein solutions with superabsorbent hydrogels could be realized by multi-stage operations.